不同相对湿度对间歇性 26 ℃环境下肉鸡盲肠菌群多样性的影响

彭骞骞 [1,2] 周 莹 [1*] 王雪敏 [2] 冯京海 [1] 甄 龙 [1, 2] 张少帅 [1] 常 玉 [1] 石玉祥 [2] 张敏红 [1**]

（1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2.河北工程大学农学院，邯郸 056021）

摘 要：本试验旨在研究不同相对湿度（RH）对间歇性 26 ℃环境下肉鸡盲肠菌群多样性的影响。选取 29 日龄爱拔益加（AA）肉鸡 180 只转入环境控制舱，随机分成 3 个组（RH 分别为 30%、60%和 85%），每组 6 个重复，每个重复 10 只鸡（公母各 5 只）。从 29 日龄开始，每天 10：00—16：00(6 h)温度维持 26 ℃，RH 分别为 30%、60%和 85%，剩余时间温度为 21 ℃，RH 为 60%。试验共 14 d。采用 16S rDNA 的变性梯度凝胶电泳（DGGE）技术，结合特异性和共性条带割胶回收 DNA 进行克隆和测序，分析 RH 在间歇性 26 ℃偏热处理第 7 和 14 天时对盲肠内容物菌群结构和多样性的影响。结果表明：1）试验第 7 天，30%RH 组肉鸡盲肠 DGGE 条带数(菌群丰富程度)高于 60%RH 组，而 85%RH 组低于 60%RH 组；试验第 14 天，30%、85%RH 组肉鸡盲肠 DGGE 条带数均高于 60%RH 组。2）聚类分析显示，试验第 7 天，85%RH 对盲肠菌群影响明显；试验第 14 天，30%RH 对盲肠菌群影响明显。但随着处理时间推移，30%RH 对肉鸡盲肠菌群影响越大。3）间歇性 26 ℃环境下不同 RH 组肉鸡盲肠内共性菌群是 *Faecalibacterium prausnitzii*；在试验第 7 天，30%、85%RH 组肉鸡盲肠中特异性菌群是 *Stomatobaculum longum*。结果提示：间歇性 26 ℃环境下，低湿(30%RH）和高湿（85%RH）影响肉鸡盲肠菌群的结构和多样性，且不同处理时间 RH 的影响不同。

关键词：相对湿度；间歇热；肉鸡；盲肠菌群；变形梯度凝胶电泳

中图分类号：S831.4

家禽肠道菌群对宿主营养吸收和肠道发育发挥着重要的作用，进而影响家禽的生长与健康[1]。环境因素、饲粮和日龄均可影响肠道菌群[2-5]。研究报道，热应激作用下，肉鸡盲肠内菌群数量变化明显，乳酸杆菌和双歧杆菌的数量显著降低，大肠杆菌和产气荚膜梭菌的

收稿日期：2016–11–04

基金项目：国家科技支撑计划课题“畜禽健康养殖环境控制关键技术研究与集成”（2012BAD39B02）；中国农业科学院科技创新团队项目（ASTIP-IAS07）

作者简介：彭骞骞（1989–），女，河北邯郸人，硕士研究生，畜牧学专业。E-mail: 18230221210@163.com

*同等贡献作者

**通信作者：张敏红，研究员，博士生导师，E-mail: zmh66@126.com

数量显著升高[6]，饲粮可显著影响胃肠道菌群的组成和代谢活性[7]。长期以来，对家禽消化道菌群的研究，多利用传统纯培养法对菌群数量进行检测[8]，但结果不够准确。原因是由于胃肠道菌群绝大多数是厌氧的，但当下技术还不够成熟，由此可见基础培养方法对肠道菌群的分析局限性很大。据报道，用传统培养技术，鸡肠道内 50%以上的正常菌群不易被检测[9]。随着现代新型技术的发展，分子生物学为研究肠道菌群提供了科学方便的方法[10]。本实验室利用变性梯度凝胶电泳（DGGE）技术研究发现，26 ℃持续偏热处理减少了肉鸡盲肠菌群的多样性[11]，而且发现间歇性偏热环境（26 和 31 ℃）和相对湿度（RH）诱导的应激显著影响肉鸡的生产性能、体温和酸碱平衡[12]。目前为止，利用 DGGE 技术对肉鸡肠道菌群影响因素的研究在饲粮成分[7,13]、日龄大小[14-17]、热应激[18-19]方面有所报道，但有关 RH 在间歇性 26 ℃环境下对肉鸡肠道菌群的研究未见报道。因此，本试验通过对肉鸡盲肠菌群 16S rDNA 基因的 DGGE 图谱进行分析，研究间歇性 26 ℃环境下不同 RH 对肉鸡盲肠菌群多样性的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理

选取 180 只 29 日龄健康爱拔益加（AA）肉鸡，体重（1 210±13） g，随机分成 3 个组，每组 6 个重复，每个重复 10 只鸡（公母各 5 只）。试验在动物营养学国家重点实验室环境控制舱内进行，温度、RH 自动控制（精度±1 ℃和±7%），无风，24 h 光照。试验肉鸡饲养在本实验室研发的单层平养笼具上[20]，自由采食与饮水。试验动物所用饲粮与文献[21-22]保持一致。

1.2 试验设计

22 日龄肉鸡在 21 ℃、RH 为 60%的环境适应 1 周。29 日龄时，将肉鸡分别转入 3 个环境控制舱，RH 分别为 30%、60%和 85%，温度在 10：00—16：00(6 h)维持在 26 ℃，剩余时间温度为 21 ℃，RH 为 60%至试验结束，共 14 d。

1.3 样品的收集与处理

分别于试验第 7 天和第 14 天，每组随机选取 6 只鸡（公母各 3 只，每重复选 1 只），禁食 12 h 后处死，用 5%新洁尔灭浸泡 3 min，全身消毒，打开腹腔，结扎盲肠两端，剪下后转移至超净工作台，用无菌剪刀剪开盲肠肠壁，将同一组的 6 个样品迅速混合均匀，放入无菌的 2 mL 离心管中，液氮速冻，－80 ℃冰箱保存备用。

1.4 盲肠样品分析

1.4.1 细菌总 DNA 的提取

参考文献[23]，采用十六烷基三甲基溴化铵（CTAB）手提法，提取样品基因组 DNA（由北京亿鸣复兴生物科技有限公司完成）。提取的基因组 DNA 置于－20 ℃保存备用。

1.4.2 基因组总 DNA 16S rDNA V3 区扩增

根据参考文献[24]设计出 16S rDNA V3 区引物（由北京亿鸣复兴生物科技有限公司合成）见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Sequence of primers

引物 Primers	序列 Sequence
357F	5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'
517R	5'-ATTACCGCGGCTGC- TGG-3'
GC357F	5'-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3'

PCR 扩增体系（50 μL）为：10×PCR 缓冲液 5 μL；dNTP（2.5 mmol/μL）3.2 μL；TaqDNA 聚合酶（5 U/μL）0.4 μL；GC-338F（20 μmol/μL）1 μL；518R（20 μmol/μL）1 μL；模板 DNA 50 ng；补 ddH_2O 至 50 μL。PCR 扩增程序为 94 ℃预变性 5 min，94 ℃变性 1 min，55 ℃退火 0.5 s，72 ℃延伸 1 min，30 个循环，72 ℃延伸 10 min。

采用 OMEGA 公司 DNA Gel Extraction Kit 对 PCR 产物进行纯化回收。PCR 仪为 Biometra 公司生产的 T-gradient。

1.4.3 基因组总 DNA 16S rDNA V3 区扩增片段 DGGE

取 10 μL PCR 的产物，采用 Bio-Rad 公司的 Gel–Doc2000 凝胶成像系统进行凝胶电泳分析。采用浓度为 7%的聚丙烯酰胺凝胶、变性梯度为 30%～60%、150 V、60 ℃下在 1×TAE 缓冲液中电泳 5~8 h。DGGE 完毕后，参考文献[25]进行硝酸银染色。染色完毕后，采用 Bio-Rad 公司的 Gel–Doc2000 凝胶成像系统扫描成像。

1.4.4 割胶回收差异条带和共性条带并克隆测序

用灭菌的手术刀切下条带，目的条带的回收采用 OMEGA 公司 Poly-Gel DNA Extraction Kit。以回收产物为模板，按 1.4.2 方法再次扩增 16S rDNA V3 区，把重新扩增的 DNA 片段切胶回收、纯化，将产物连接在 Pmd18-T 载体上，并转化至 DH5α 感受态细胞中，挑选阳性克隆，北京亿鸣复兴生物科技有限公司进行测序。测序结果分析在 GenBank 的 Blast 中进

行。

1.5　数据处理

DGGE 图谱采用 Quantity One 软件对每个样品的条带数目进行量化分析，用非加权组平均法(UPGMA)进行聚类分析。根据 DGGE 图谱样品条带数及每个条带灰度值，对各样品中细菌多样性指数进行分析。样品的多样性用香农–维纳指数（H）、均匀度（E）和丰富度（S）指标表示。其算法如下：

$$H=-\sum_{i=1}^{S} Pi \ln Pi = -\sum_{i=1}^{S}(Ni/N)\ln(Ni/N)$$

$$E=H/H_{max}=H/\ln S$$

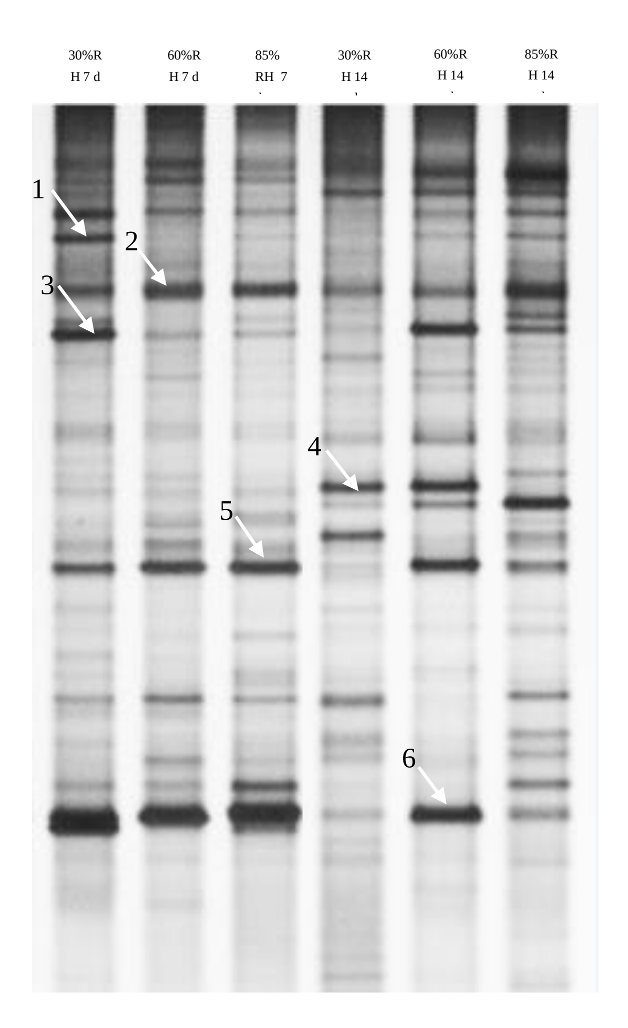
其中，*Pi* 为样品中单一条带的强度在该样品所有条带总强度中所占的比率，*N* 为 DGGE 图谱单一泳道上所有条带的丰富度，*Ni* 为第 i 条带的丰富度；*S* 是某样品中所有条带数目总和。

2　结果与分析

2.1　肉鸡盲肠菌群结构分析

各部位样品均是 6 只鸡盲肠内含物的混合物。持续偏热处理影响肉鸡盲肠菌群的 PCR-DGGE 图谱（图 1），相同时间、不同 RH 处理下的图谱均有差异。采用 Quantity One 软件将肉鸡盲肠菌群 16S rDNA V3 区 PCR-DGGE 图谱进行数字化分析，结果显示：试验第 7 天，30%RH 组细菌条带比 60%RH 组增加了 2 条，85%RH 组细菌条带比 60%RH 组减少了 1 条；试验第 14 天，30%、85%RH 组细菌条带比 60%RH 组分别增加了 8 和 5 条。结果表明：试验第 7 天，30%RH 增加了肉鸡盲肠菌群的多样性，85%RH 减少了肉鸡盲肠菌群的多样性；试验第 14 天，30%、85%RH 均增加了肉鸡盲肠菌群的多样性。相同 RH 处理，不同时间对肉鸡盲肠菌群的 PCR-DGGE 图谱影响也有差异。30%、85%RH 组条带在试验第 14 天比第 7 天增加了 5 条，60%RH 组则减少了 1 条，这说明 30%、85%RH 组处理时间对肉鸡盲肠菌群多样性影响较大，而 60%RH 组则影响较小。

聚类分析结果（图 2）显示，试验第 7 天，30%、85%RH 组和 60%RH 组的相似系数分别为 71.2%、64.4%；试验第 14 天，30%、85%RH 组和 60%RH 组的相似系数分别为 52.9%、65.2%；试验第 14 天较第 7 天，30%RH 组相似系数较 85%RH 组明显下降。以上结果表明，试验第 7 天，85%RH 对盲肠菌群影响明显；试验第 14 天，30%RH 对盲肠菌群影响明显，且随着处理时间推移，30%RH 对肉鸡盲肠菌群影响越大。



图谱中数字为切胶编号 The numbers in the profiles showed excised gel No.。

图 1 肉鸡盲肠内容物 PCR-DGGE 图谱

Fig.1 PCR-DGGE profiles generated from cecum contents of broilers

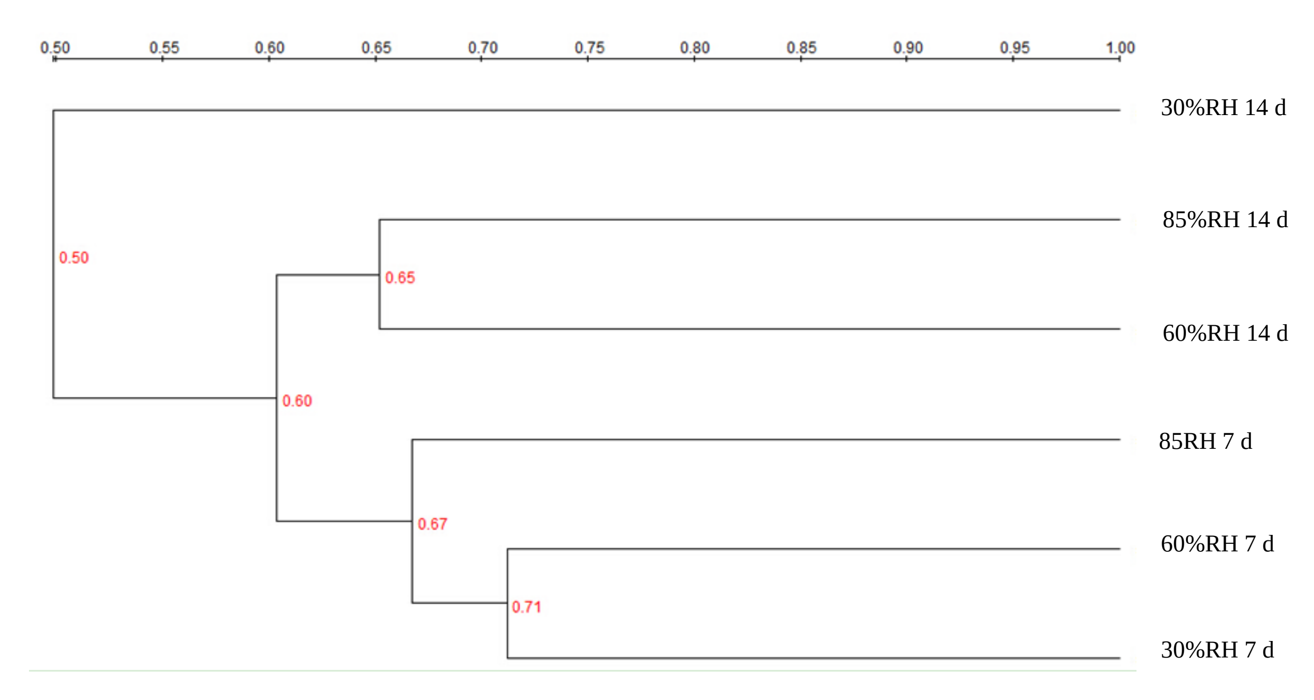


图 2　肉鸡盲肠菌群 PCR-DGGE 聚类分析

Fig.2　Cluster analysis of PCR-DGGE in cecum flora of broilers

2.2　肉鸡盲肠菌群多样性分析

根据 PCR-DGGE 图谱中样品条带数目及每个条带的强度，对各样品中细菌多样性指标进行分析。由表 2 可知，不同 RH 处理下肉鸡盲肠菌群多样性指标存在差异。试验第 7 天，30%RH 组盲肠菌群香农－维纳指数和丰富度是 2.81 和 20，85%RH 组为 2.65 和 17；试验第 14 天，30%RH 组盲肠菌群香农－维纳指数和丰富度是 3.03 和 25，85%RH 组为 2.96 和 22；且在整个试验期间 30%RH 组香农－维纳指数和丰富度均高于 60%、80%RH 组。试验第 7 天，85%RH 组香农－维纳指数和丰富度均低于 60%RH 组；试验第 14 天，30%、85%RH 组香农－维纳指数和丰富度均高于 60%RH 组。在试验全期，各组的均匀度都在 92%以上。结果表明，30%RH 提高了肉鸡盲肠菌群多样性指数和丰富度；试验第 7 天，85%RH 降低了肉鸡盲肠菌群多样性指数和丰富度；试验第 14 天，30、85%RH 提高了肉鸡盲肠菌群多样性指数和丰富度。

表 2　肉鸡盲肠菌群多样性

Table 2　Caecal microflora diversity of broilers

时间 Time	相对湿度 RH	香农－维纳指数 Shannon-wiener index	均匀度 Evenness	丰富度 Richness
第 7 天	30%	2.81	0.94	20
The 7th	60%	2.74	0.95	18
day	85%	2.65	0.93	17
第 14 天	30%	3.03	0.94	25
The 14th	60%	2.62	0.92	17
day	85%	2.96	0.96	22

2.3　肉鸡盲肠特异性菌群和共性菌群分析

从肉鸡盲肠菌群 16S rDNA V3 区 PCR-DGGE 图谱中分别割胶回收了 2 个共性条带和 4 个特异性条带（见图 1 中箭头所指），PCR 扩增后克隆到 Pmd18-T 载体并测序，在 GenBank 数据库中进行比对分析，测序结果见表 3，试验第 7、14 天时盲肠均检测到 2 和 6 号条带（*Faecalibacterium prausnitzii*）；间歇性 26 ℃环境下不同 RH 处理后，盲肠菌群也会出现明显差异，在试验第 7 天，1 号条带（*Stomatobaculum longum*）均出现在 30%、85%RH 组，而 60%RH 组未发现；在试验第 14 天，1 和 5 号条带（*Stomatobaculum longum* 和 *Faecalibacterium prausnitzii*）在 30%RH 处理下均不生长，在 60%、85%RH 组均被测出，4 号条带（*Clostridium thermosuccinogenes*）均出现 30%、60%RH 组，而 85%RH 组未发现。以上结果说明，在试验第 7 天，30%、85%RH 促进了 *Stomatobaculum longum* 生长；在试验第 14 天，30%RH 抑制了 *Faecalibacterium prausnitzii* 的定植，85%RH 抑制了 *Clostridium* thermosuccinogenes 的定植。

在 6 个测序结果中，条带序列分布于厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)，与 GenBank 数据库中细菌的同源性绝大多数都大于 95%，但条带 4 数据库中与之亲缘关系最近的已鉴定的菌群的同源性仅为 84%。因此这个序列所代表的菌群有可能为新的不可培养菌群。

表 3　DGGE 图谱中条带的基因片段序列比对

Table 3　Comparison of genomic sequences of bands from DGGE profiles

条带编号 Band No.	序列长度 Length/bp	GenBank 数据库中最相近的菌种名称 The most similar species names in	登陆号 Access No.	相似性 Similarity/%	最相似类群 The most similar	备注 Note

		GenBank database			groups	
1	172	*Stomatobaculum longum*	NR_117792	100%	Firmicutes	
2	169	*Faecalibacterium prausnitzii*	NR_028961	96%	Firmicutes	普通条带
3	168	*Bacteroides vulgatus*	NR_074515	99%	Bacteroidetes	
4	189	*Clostridium thermosuccinogenes*	NR_119284	84%	Firmicutes	
5	169	*Faecalibacterium prausnitzii*	NR_028961	96%	Firmicutes	
6	169	*Faecalibacterium prausnitzii*	NR_028961	95%	Firmicutes	普通条带

3 讨 论

3.1 持续偏热环境对肉鸡盲肠菌群多样性的影响

Zhou 等[26]研究表明，PCR-DGGE 图谱分析家禽肠道菌群需具备合适的样本量，大量试验结果表明最佳样本量为 5 只鸡。Gong 等[27]采用同样的分析技术研究肉鸡嗉囊到盲肠黏膜细菌的组成，采用的样本量为 5 只鸡。笔者等人在 2015 年应用 DGGE 技术对持续偏热环境对肉鸡盲肠菌群多样性的研究，所采用的样本量为 6 只鸡[11]。因此，本试验采用 6 只肉鸡盲肠内容物混合样品，应用 DGGE 技术分析间歇性 26 ℃环境下 RH 对肉鸡盲肠菌群多样性的影响。

研究显示，盲肠对菌群多样性影响很大[28]。盲肠菌群的多样性以及 1 g 粪便含有 10^{11} CFU 菌群使盲肠成为人们关注的焦点[7]。许多研究报道，肉鸡肠道中盲肠菌群较丰富[29]。李永洙[19]利用 PCR-DGGE 技术发现肉鸡生长期对盲肠菌群的影响最大。盲肠内菌群最丰富，随着日龄的增长菌群种类会增加，28 日龄达到稳定状态[27]。本试验根据前人研究，选取盲肠对肉鸡进行肠道菌群多样性的研究。

本研究结果显示，试验第 7 天，85%RH 降低了盲肠总菌数量，减少了肉鸡盲肠菌群的多样性；试验第 14 天，30%、85%RH 增加了盲肠总菌数量，改变了肉鸡盲肠菌群的多样性。30%、85%RH 组条带在试验第 14 天比第 7 天明显增加 5 条，60%RH 组则减少 1 条。说明在 30%、85%RH 组中，处理时间对肉鸡盲肠菌群多样性影响较大，60%RH 组中则影响较小。前人研究表明，间歇性偏热(26、31℃) 环境和 RH 诱导显著影响肉鸡的生长性能、体温和酸碱平衡；而且 85%RH 显著降低肉鸡的平均日采食量和平均日增重，但对料重比都没有显著影响，显著升高肉鸡的体温，造成酸碱平衡紊乱[12]。Adams 等[30]阐述，持续 29 ℃时，高湿(80% vs. 40%)降低了 4～8 周龄肉鸡的生长率。本试验研究表明，85%RH 先减少后增加肉鸡盲肠菌群多样性，可能由于 85%RH 改变了肉鸡肠道酸碱平衡，导致使肠道菌群平衡遭

到破坏，从而降低了机体应对不良因素的能力。

3.2 持续偏热环境对肉鸡盲肠菌群结构的影响

家禽肠道中主要是厚壁门菌[27]。本试验结果表明，间歇性 26 ℃环境下，30%RH 减少了 *Faecalibacterium prausnitzii*、*Stomatobaculum longum* 的生长，85%RH 减少了 *Clostridium thermosuccinogenes* 的定植。*Faecalibacterium prausnitzii* 能代谢肠道未吸收的糖类产品产生大量丁酸，是肠道产生丁酸的主要细菌。它也可以分泌某种尚不明确的物质与丁酸产生抗炎作用，并且可以纠正肠道菌群失调[31-32]。*Stomatobaculum longum* 在基础厌氧培养基主要的终末代谢产物是丁酸、乳酸、异戊酸和乙酸[33]。*Clostridium thermosuccinogenes* 主要发酵各种碳水化合物，主要产物为琥珀酸、醋酸和甲酸[33]。这 3 种细菌都属于不可培养的厚壁门细菌，厚壁门菌和拟杆门菌中的大部分菌可产生降解植物细胞壁的酶，参与植物细胞壁的降解，从而与肠道的消化功能有关。研究表明，丁酸对宿主的肠道健康起到重要作用[34-37]。试验第 14 天，30%、85%RH 组条带比试验第 7 天明显增加 5 条，而 60%RH 组仅减少 1 条，由此可见 30%、85%RH 对肉鸡盲肠菌群多样性影响较大，60%RH 则影响较小。但高湿和低湿应激，导致的肉鸡肠道菌群数量和种类的改变，目前工作只是对部分条带进行分析，菌种对其消化吸收是正效应，亦或负效应，有待进一步全面研究。

4 结 论

① 间歇性 26 ℃环境下，30%、85%RH 改变了肉鸡盲肠菌群多样性。

② 间歇性 26 ℃环境下，30%RH 处理下的特异性菌是 *Stomatobaculum longum* 和 *Faecalibacterium prausnitzii*，85%RH 抑制了 *Stomatobaculum longum* 和 *thermosuccinogenes* 的定植。

参考文献：

[1] MACKIE R,WHITE B,ISAACSON R E.Gastrointestinal microbiology:gastrointestinal microbes and host interactions[M].New York:Springer,1997.

[2] LUMPKINS B S,BATAL A B,LEE M D.Evaluation of the bacterial community and intestinal development of different genetic lines of chickens[J].Poultry Science,2010,89(8):1614–1621.

[3] NICHOLSON J K,HOLMES E,KINROSS J,et al.Host-gut microbiota metabolic interactions[J].Science,2012,336(6086):1262–1267.

[4] SJ ÖGREN Y M,TOMICIC S,LUNDBERG A,et al.Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses[J].Clinical & Experimental Allergy,2009,39(12):1842–1851.

[5] SAMUEL B S,SHAITO A,MOTOIKE T,et al.Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor,Gpr41[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2008,105(43):16767–16772.

[6] 贺绍君,赵书景,李静,等.甜菜碱对热应激肉鸡生长性能、十二指肠消化酶活性及盲肠微生物区系的影响[J].动物营养学报,2014,26(12):3731–3739.

[7] 王丽凤,张家超,马晨,等.鸡肠道微生物研究进展[J].动物营养学报,2013,25(3):494–502.

[8] BARROW P A.Probiotics for chickens[M]//Fuller R.Probiotics:the scientific basis.Netherlands:Springer,1992:225–257.

[9] BARNES E M,MEAD G C,BARNUML D A,et al.The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age,with particular reference to the anaerobic bacteria[J].British Poultry Science,1972,13(3):311–326.

[10] HOOPER L V,WONG M H,THELIN A,et al.Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine[J].Science,2001,291(5505):881–884.

[11] 彭骞骞,王雪敏,张敏红,等.持续偏热环境对肉鸡盲肠菌群多样性的影响[J].中国农业科学,2016,49(1):186–194.

[12] 周莹,彭骞骞,张敏红,等.相对湿度对间歇性偏热环境下肉鸡体温、酸碱平衡及生产性能的影响[J].动物营养学报,2015,27(12):3726–3735.

[13] TOROK V A,OPHEL-KELLER K,LOO M,et al.Application of methods for identifying broiler chicken gut bacterial species linked with increased energy metabolism[J].Applied and Environmental Microbiology,2008,74(3):783–791.

[14] GONG J,YU H,LIU T,et al.Effects of zinc bacitracin,bird age and access to range on bacterial microbiota in the ileum and caeca of broiler chickens[J].Journal of Applied Microbiology,2008,104(5):1372–1382.

[15] FONSECA B B,BELETTI M E,SILVA M S D,et al.Microbiota of the cecum,ileum morphometry,pH of the crop and performance of broiler chickens supplemented with probiotics[J].Revista Brasileira De Zootecnia,2010,39(8):1756–1760.

[16] LU J,IDRIS U,HARMON B,et al.Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken[J].Applied and Environmental Microbiology,2003,69(11):6816–6824.

[17] AMIT-ROMACH E,SKLAN D,UNI Z.Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers[J].Poultry Science,2004,83(7):1093–1098.

[18] 李永洙,李进,张宁波,等.热应激环境下蛋鸡肠道微生物菌群多样性[J].生态学报,2015,35(5):1601–1609.

[19] 李永洙.利用 PCR-DGGE 方法分析不同鸡群的盲肠微生物菌群结构变化[J].生态学报,2011,31(21):6513–6521.

[20] 张敏红,苏红光,冯京海,等.采集用于建立肉鸡生活环境舒适性评价模型数据的方法和专用装置:中国,CN103404447A[P].2013-11-27.

[21] 胡春红,张敏红,冯京海,等.偏热刺激对肉鸡休息行为、生理及生产性能的影响[J].动物营养学报,2015,27(7):2070–2076.

[22] 甄龙,石玉祥,张敏红,等.持续偏热环境对肉鸡生长性能、糖脂代谢及解偶联蛋白 mRNA 表达的影响[J].动物营养学报,2015,27(7):2060–2069.

[23] SHEN W H.Plant molecular biology,a laboratory manual:edited by M.S. Clark,Springer Verlag,Berlin,1997,DM 120.00[J].Plant Science,1997,124(2):223.

[24] MUYZER G,DE WAAL E C,UITTERLINDEN A G.Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J].Applied and Environmental Microbiology,1993,59(3):695–700.

[25] VAN ORSOUW N J,LI D,VIJG J.Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) increases resolution and informativity of Alu-directed inter-repeat PCR[J].Molecular and Cellular Probes,1997,11(2):95–101.

[26] ZHOU H,GONG J,BRISBIN J T,et al.Appropriate chicken sample size for identifying the composition of broiler intestinal microbiota affected by dietary antibiotics,using the polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis technique[J].Poultry Science,2007,86(12):2541–2549.

[27] GONG J H,SI W D,FORSTER R J,et al.16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts:from crops to ceca[J].FEMS Microbiology Ecology,2007,59(1):147–157.

[28] 倪学勤,GONG J,YU H,等.采用 PCR-DGGE 技术分析蛋鸡肠道细菌种群结构及多样性[J].畜牧兽医学报,2008,39(7):955–961.

[29] 姚琨,张日俊.肉仔鸡后肠道菌群多样性及其演替规律的研究[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十次学术研讨会论文集.杭州:中国畜牧兽医学会,2008:1.

[30] ADAMS R L,ROGLER J C.The effects of dietary aspirin and humidity on the performance of light and heavy breed chicks[J].Poultry Science,1968,47(4):1344–1348.

[31] SIZOVA M V,MULLER P,PANIKOV N,et al.*Stomatobaculum longum* gen. nov.,sp. nov.,an obligately anaerobic bacterium from the human oral cavity[J].International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2013,63(4):1450–1456.

[32] SOKOL H,PIGNEUR B,WATTERLOT L,et al.*Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2008,105(43):16731–16736.

[33] LOUIS P,FLINT H J.Diversity,metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine[J].FEMS Microbiology Letters,2009,294(1):1–8.

[34] SRIDHAR J,EITEMAN M A.Metabolic flux analysis of *Clostridium thermosuccinogenes*[J].Applied Biochemistry and Biotechnology,2001,94(1):51–69.

[35] DUNCAN S H,HOLD G L,HARMSEN H J M,et al.Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*,and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov.,comb. nov[J].International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,2002,52(6):2141–2146.

[36] BEN-AMOR K,HEILIG H,SMIDT H,et al.Genetic diversity of viable,injured,and dead fecal bacteria assessed by fluorescence-activated cell sorting and 16S rRNA gene analysis[J].Applied and Environmental Microbiology,2005,71(8):4679–4689.

[37] PRYDE S E,DUNCAN S H,HOLD G L,et al.The microbiology of butyrate formation in the human colon[J].FEMS Microbiology Letters,2002,217(2):133–139.

Effects of Different Relative Humidity on Cecal Microflora Diversity of Broilers under Intermittent 26 ℃ Environment

PENG Qianqian[1,2] ZHOU Ying[1*] WANG Xuemin[2] FENG Jinghai[1] ZHEN Long[1,2]

ZHANG Shaoshuai[1] CHANG Yu[1] SHI Yuxiang[2] ZHANG Minhong[1**]

(1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of*

Agricultural Sciences, *Beijing* 100193, *China*; 2. *College of Agriculture*, *Hebei University of Engineering*, *Handan* 056021, *China*)

Abstract: This study was carried out to investigate the effects of different relative humidity (RH) on cecal microflora diversity of broilers under intermittent 26 ℃ environment. One hundred and eighty 29-day-old Arbor Acres (AA) broilers were assigned to three environment chambers （RH were 30%, 60% and 85%）, each chamber contained six cages with ten birds per cage (five males and five females), and each cage as a replicate. When broilers were 29-day-old, the temperature of groups was at 26 ℃, regulating the RH to 30%, 60% and 85%, and the temperature and RH of groups were kept six hours each day at 10:00 to 16:00, and broilers were kept at 21 ℃ and 60% RH in the other time. The trial period lasted for 14 days. The effects of RH on bacterial community and diversity in the cecal digesta of broilers at the 7th and 14th day under intermittent 26 ℃ environment were analyzed by using 16S rDNA-based denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), combined with the cloning and sequencing of DNA recycled by specificity and generality stripe tapping. The results showed as follows: 1) on the 7th day, cecum DGGE bands number (flora abundance) of broilers in 30% RH group was higher than that in 60% RH group, while in 85% RH group was lower than that in 60% RH group; on the 14th day, cecum DGGE bands number of broilers in 30% and 85% RH groups was higher than that in 60% RH group. 2) Cluster analysis showed that on the 7th day, 85% RH affected the cecal microflora obviously, but on the 14th day, 30% RH did. And as treatment time processing, 30% RH made a greater effect on cecal microflora. 3) The common cecal microbiota of different RH groups under intermittent 26 ℃ environment was *Faecalibacterium prausnitzii*, and on the 7th day, the specific cecal microbiota in 30% and 85% RH groups was *Stomatobaculum longum*. In conclusion, at the intermittent 26 ℃ environment, 30% and 85% RH can change the structure and diversity of cecal microflora of broilers, and the effects of RH at different processing time were different.

Key words: relative humidity; intermittent partial heat environment; broilers; cecal microbiota; denaturing gradient gel electrophoresis

---

*Contributed equally
**Corresponding author, professor, E-mail: zmh66@126.com (责任编辑　田艳明)